

Induksi Propagul Kultur Nodus Tanaman Anggur (*Vitis vinifera*) varietas Prabu Bestari pada Berbagai Konsentrasi ZPT BA dan NAA

DINI WIRDASARI
RINDANG DWIYANI^{*)}
IDA AYU PUTRI DARMAWATI

Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana
Jl. PB. Sudirman, Denpasar 80234 Bali
^{*)}Email: rindangdwiyani@unud.ac.id

ABSTRACT

Propagule Induction of Node Culture of Grape (*Vitis vinifera*) varieties Prabu Bestari at Various Concentration of BA and NAA

Propagation of grape seeds still uses conventional methods such as cuttings and grafting. In vitro culture technology can be a solution for plant propagation techniques that using small explants and in small quantities but capable to producing large amounts of seeds. Propagules are new formations that arise from explant tissue, can be in the form of shoots or callus that can occur through direct or indirect organogenesis. The aim of the research was to obtain the best culture medium in the formation of propagules. The research was conducted in two stages, the first was propagule induction and the second was subculture. The research used a Completely Randomized Design. Propagule induction was used a factor with combination of BA and NAA. The levels use of ZPT BA are: 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm and the levels use of ZPT NAA are: 1 ppm, 3 ppm, and 5 ppm. The total combination treatment was 9 treatments and the addition of treatment K0 (control). Each treatment was repeated 3 times for a total of 30 experimental units. The subculture medium used was WPM + 1 ppm TDZ. The results showed that MS treatment with a combination of ZPT BA and NAA succeeded in forming propagules in the form of meristemoids and shoots. K3 (MS + 2 ppm BA + 5 ppm NAA) was the treatment that gave the best response to the percentage of meristemoid formation of 100%. K4 (MS + 4 ppm BA + 1 ppm NAA) was the treatment that succeeded in inducing 33.3% shoots.

Keywords: Propagation, Tissue Culture, PGR, propagule

1. Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

Anggur adalah buah yang kaya akan vitamin, mineral, karbohidrat dan senyawa fitokimia. (Prihatman, 2010). Berdasarkan SK Menteri Pertanian

No.600/Kpts/SR.120/11/2007, Prabu Bestari merupakan salah satu varietas anggur unggulan di Indonesia (Andrini, 2008). Teknik perbanyak bibit tanaman anggur di Indonesia masih menggunakan cara konvensional seperti stek dan *grafting*.

Perbanyak bibit dengan stek memerlukan bahan tanam dalam jumlah banyak, dalam hal ini ketersediaan bahan stek harus berbanding lurus dengan banyaknya bibit yang ingin diperoleh. Teknologi kultur *in vitro* dapat menjadi solusi untuk perbanyak tanaman karena menggunakan eksplan (bahan tanam) yang kecil dan kuantitasnya sedikit tetapi mampu menghasilkan bibit dalam jumlah banyak. Kultur jaringan tanaman atau kultur *in vitro* adalah suatu teknik perbanyak tanaman dengan mengambil bagian dari tanaman seperti sel, jaringan, organ yang kemudian dikerjakan di laboratorium dengan menanam pada suatu media buatan yang mengandung nutrisi yang aseptik untuk menjadi tanaman secara utuh. Salah satu organ tanaman yang biasa digunakan sebagai eksplan kultur ialah nodus (buku pada batang) sehingga dinamakan kultur nodus (Dwiyani, 2015).

Keberhasilan suatu kultur *in vitro* sangat didukung dengan adanya penambahan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) pada media pertumbuhan eksplan. ZPT yang umum digunakan yaitu auksin dan sitokinin. ZPT *Benzyl Adenin* (BA) paling sering digunakan dalam memacu peggandaan tunas karena mempunyai aktivitas yang kuat dibandingkan dengan Kinetin (Zaer dan Mapes, 1982 dalam Lestari, 2011). Penggunaan NAA akan menghasilkan propagul berupa akar (Rini, *et.al.*, 2018). Terbentuknya propagul dalam kultur *in vitro* menyesuaikan perbandingan konsentrasi ZPT yang digunakan. Konsentrasi ZPT auksin yang lebih tinggi dari sitokinin mampu menghasilkan propagul yang menginduksi akar. Konsentrasi ZPT auksin yang lebih rendah dari sitokinin mampu menghasilkan propagul berupa tunas. Bila konsentrasi dari ZPT auksin dan sitokinin sama maka eksplan membentuk kalus (Skoog and Miller, 1957 dalam Taji, *et.al.*, 2006). Berdasarkan penjelasan di atas, sehingga dilakukan penelitian mengenai Induksi Propagul Kultur Nodus Tanaman Anggur (*Vitis vinifera*) varietas Prabu Bestari Pada Berbagai Konsentrasi Konsentrasi BA dan NAA. Tujuannya untuk mendapatkan media terbaik dengan kombinasi BA dan NAA terhadap pembentukan propagul pada kultur nodus tanaman anggur.

2. Bahan dan Metode

2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei – September tahun 2021, bertempat di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Udayana, Jln. Pulau Moyo 16 X, Denpasar.

2.2 Bahan dan Alat

LAF *Cabinet* (*Laminar Air Flow*), autoklaf, kompor, pinset, scalpel, pipet, botol kultur, cawan petri dan pembakar bunsen, batang pengaduk, pH meter, timbangan analitik, gelas kimia, gelas ukur, rak kultur, plastik, kertas saring, kertas

label, aluminium foil, karet gelang, *shaker*, *magnetic stirrer*, *handsprayer*, alat dokumentasi, alat tulis menulis, dan jangka sorong.

Eksplan yang digunakan adalah nodus tanaman anggur Prabu Bestari yang relatif muda. Bahan yang digunakan yaitu aquades steril, alcohol 70%, *detergen*, spirtus, fungisida, bakterisida, bayclin, MS (Murashige and Skoog) dan WPM, gula atau sukrosa, agar-agar, vitamin, ZPT *Benzyl Adenin* (BA), *Naphtalene Acetid Acid* (NAA) dan *Thidiazron* (TDZ).

2.3 *Rancangan Percobaan*

Penelitian yang dilakukan melalui dua tahap yaitu induksi propagul dan subkultur dengan rancangan percobaan berupa Rancangan Acak Lengkap. Tahap induksi propagul, faktor yang digunakan berupa kombinasi ZPT BA dan NAA. Penggunaan taraf BA pada perlakuan ini yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm. Penggunaan taraf NAA yaitu 1 ppm, 3 ppm, 5 ppm. Total perlakuan kombinasi yaitu 9 perlakuan serta penambahan 1 perlakuan kontrol (K0). Seluruh perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga secara keseluruhan terdapat 30 unit percobaan.

2.4 *Pelaksanaan Penelitian*

2.4.1 *Sterilisasi Lingkungan Kerja*

Sterilisasi lingkungan kerja bertujuan untuk meminimalisir terjadinya kontaminasi. Kegiatan yang dilakukan berupa menyapu dan mengepel lantai, penyemprotan alcohol pada LAFC (Laminar Air Flow Cabinet). Sinar UV pada *Laminar Air Flow* dinyalakan selama 1-2 jam. Lampu UV hanya dinyalakan saat tidak dipakai dan segera dimatikan ketika akan dipakai. Setelah lampu UV dimatikan ada baiknya di diamankan selama 25-30 menit.

2.4.2 *Sterilisasi Alat*

Alat kultur yang akan digunakan sebaiknya dicuci terlebih dahulu dengan menggunakan sabun sampai bersih lalu dikeringkan. Botol kultur yang akan disterilisasi ditutup dengan plastik dan diikat dengan karet gelang. Selain dari botol, alat dibungkus dengan kertas coklat kemudian diikat dengan karet gelang, aquades dimasukan pada gelas kultur. Sterilisasi pada autoklaf dilakukan selama 45 menit dengan tekanan 17,5 Psi dan suhu 121°C.

2.4.3 *Pembuatan Media*

Media tanam yang digunakan pada penelitian ini adalah media MS yang ditambah dengan ZPT BA dan NAA sesuai dengan taraf yang telah ditentukan. Tahap pertama adalah mempersiapkan ZPT untuk diambil sesuai taraf perlakuan. ZPT diambil dengan menggunakan pipet. Kemudian dimasukan ke dalam gelas ukur yang sudah diberi label sesuai dengan taraf perlakuan (terdapat 10 gelas ukur). Tahap kedua adalah pembuatan media 1 liter, caranya adalah dengan mencampur media MS 4,43 gram, agar 7 gram, gula 30 gram, PVP 2 gram dan air steril 600 ml ke dalam gelas

ukur selanjutnya letakan pada *magnetic stirrer* supaya larutan dapat homogen. Tambahkan air steril kembali pada media campuran tersebut supaya larutan mejadi 1000 ml. Setelah itu larutan media dimasak sampai mendidih di atas kompor, pH medium diatur 5,8 – 6,0 dengan menambahkan NaOH atau HCl. Apabila pH media kurang dari 5,8 maka ditambahkan NaOH, apabila pH media lebih besar dari 6,0 maka ditambahkan HCl.

Tahap ketiga, media yang sudah dibuat kemudian dibagi secara rata untuk 10 gelas ukur yang telah berisi ZPT sesuai taraf perlakuan. Selanjutnya isi botol kultur dengan media yang telah dibuat (15-20 ml per botol). Botol kultur kemudian ditutup dengan plastik dan diikat karet gelang dengan rapat. Kemudian, botol kultur yang sudah terisi media tersebut dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf selama kurang lebih 45 menit. Media dapat digunakan apabila tidak mengindikasikan adanya kontaminasi. Pembuatan media untuk subkultur dengan penggunaan media WPM + 1 ppm TDZ juga melauai prosedur yang sama seperti awal, hanya berbeda pada pengambilan taraf ZPT.

2.4.4 *Isolasi Eksplan dan Sterilisasi Eksplan*

Isolasi eksplan adalah pengambilan eksplan dari bagian tanaman yang akan dikulturkan. Eksplan yang akan digunakan pada penelitian yaitu berupa nodus tanaman anggur varietas Prabu Bestari. Jumlah eksplan yang diambil yaitu sebanyak 30 nodus berupa nodus ke 5,6,7 dengan ukuran sekitar 1 cm. Sterilisasi eksplan dilakukan dengan dua cara yaitu sterilisasi di luar dan di dalam LAFC. Sterilisasi di luar LAFC yaitu dicuci bersih pada air mengalir kemudian dibilas sampai 3 kali kemudian direndam pada larutan bayclin dan sunlight dengan air 1000 ml selama 20 menit dan bilas dengan air mengalir sampai busa menghilang. Masukkan eksplan pada air 1000 ml dengan penambahan bakterisida (2 gr) dan fungisida (2 gr) selama 20 menit setelah itu bilas dengan air mengalir. Sterilisasi eksplan di dalam LAFC dilakukan dengan merendam eksplan pada larutan Clorox 50% (50% bayclin dan 50% aquades) dengan digoyangkan selama 15 menit kemudian dibilas dengan aquades selama 5 kali.

2.4.5 *Penanaman eksplan dan Pemeliharaan Eksplan*

Penanaman eksplan dilakukan pada suatu LAFC. Batang tanaman anggur yang telah disterilisasi dipotong dengan diambil bagian batang nodus nya menggunakan *scalpel* yang dialasi pada *petridish*. Batang nodus kemudian ditanam pada suatu botol kultur yang telah berisi media perlakuan. Setiap botol kultur terdapat 1 eksplan. Botol kultur disimpan di ruangan inkubasi pada rak kultur. Lingkungan kultur sudah dimodifikasi secara homogen dengan adanya lampu LED yang seragam sebagai penyinarannya, pengaturan suhu ruangan sekitar 20^o – 22^o C dengan kelembapan 60 – 80%. Pemeliharaan dilakukan terhitung sejak bulan mei - September.

2.4.6 Subkultur

Subkultur dilakukan pada media perlakuan WPM + 1 ppm TDZ. Eksplan yang digunakan adalah propagul berupa meristemoid hasil dari penanaman eksplan tahap 1. Setiap eksplan dipotong menjadi 9 bagian kemudian dibagi tiga ulangan sehingga didapatkan 3 potongan meristemoid setiap botol kultur. Eksplan diamati selama 1 bulan.

2.5 Variabel Pengamatan dan Analisis Data

Variabel pengamatan meliputi eksplan *browning*, eksplan yang terkontaminasi, eksplan membentuk meristemoid, eksplan tumbuh tunas, diameter meristemoid, waktu muncul meristemoid (HST), mengidentifikasi bentuk dan warna meristemoid, eksplan membentuk meristemoid setelah subkultur. Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif kualitatif.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Hasil

Tabel 1. Menunjukkan eksplan pada media perlakuan MS dengan berbagai konsentrasi BA dan NAA telah berhasil membentuk propagul berupa meristemoid dan tunas. Keseluruhan perlakuan membentuk meristemoid dengan persentase pembentukan meristemoid terbaik terdapat pada eksplan yang ditanam pada media perlakuan K1 dan K3 yaitu sebesar 100%. Perlakuan K4 (MS + 4 ppm BA + 1 ppm NAA) telah berhasil menginduksi tunas sebesar 33,3%. Eksplan yang tidak membentuk propagul dikarenakan beberapa kondisi kultur mengalami *browning*, terkontaminasi jamur dan bakteri.

Tabel 1. Pengaruh Perlakuan Terhadap Persentase Eksplan Membentuk Meristemoid, Tunas, Kontaminasi dan *Browning*

Perlakuan	Persentase eksplan membentuk meristemoid (%)	Persentase eksplan tumbuh tunas (%)	Persentase kontaminasi (%)	Persentase <i>browning</i> (%)
K0	0	0	0	100
K1	100	0	0	0
K2	66,6	0	0	33,3
K3	100	0	0	0
K4	33,3	33,3	33,3	0
K5	66,6	0	0	33,3
K6	33,3	0	33,3	33,3
K7	33,3	0	0	66,6
K8	0	0	66,6	33,3
K9	66,6	0	0	33,3

Keterangan: Kolom yang berisi (0) menunjukkan bahwa eksplan tidak membentuk propagul dikarenakan eksplan mengalami kontaminasi dan *browning*.

Tabel 2. Pengaruh Perlakuan Terhadap Waktu terbentuknya Meristemoid (HST), Tekstur, dan Warna

Perlakuan	Waktu terbentuknya meristemoid (HST)	Tekstur meristemoid	Warna meristemoid
K0	-	-	-
K1	14	Kompak	Hijau, putih
K2	16,3	Kompak	Hijau, putih, kuning
K3	14	Kompak	Hijau, putih, kuning, merah
K4	14	Kompak	Hijau, putih, merah
K5	14	Kompak	Hijau, merah, putih, kuning
K6	21	Kompak	Kuning
K7	14	Kompak	Hijau
K8	-	-	-
K9	16,3	Kompak	Hijau, putih, kuning

Keterangan: Simbol (-) menunjukkan tidak mengindikasikan adanya hasil dikarenakan eksplan mati akibat kontaminasi dan *browning*.

Tabel 2. Menunjukkan eksplan yang membentuk meristemoid paling banyak terjadi pada 14 HST dan pembentukan meristemoid paling lama yaitu 21 HST pada perlakuan K6. Keseluruhan meristemoid yang terbentuk bertekstur kompak dengan warna tunggal atau kombinasi berwarna hijau, kuning, putih, merah dan coklat.

Tabel 3. Pengaruh Perlakuan Terhadap Persentase Eksplan Tumbuh Meristemoid Setelah Subkultur

Perlakuan	Diameter Meristemoid (cm)	Persentase eksplan tumbuh meristemoid setelah subkultur
K0	-	-
K1	1,04	55,5
K2	2,58	0
K3	1,07	100
K4	0,95	33,3
K5	2,55	33,3
K6	0,96	55,5
K7	2,16	33,3
K8	-	-
K9	1,99	66,6

Keterangan: Kolom yang diisi dengan tanda (-) menunjukkan bahwa eksplan sudah mati sehingga tidak dilakukan subkultur. Persentase eksplan tumbuh meristemoid setelah subkultur yang tidak mencapai 100% dikarenakan kondisi kultur mengalami *browning* dan kontaminasi.

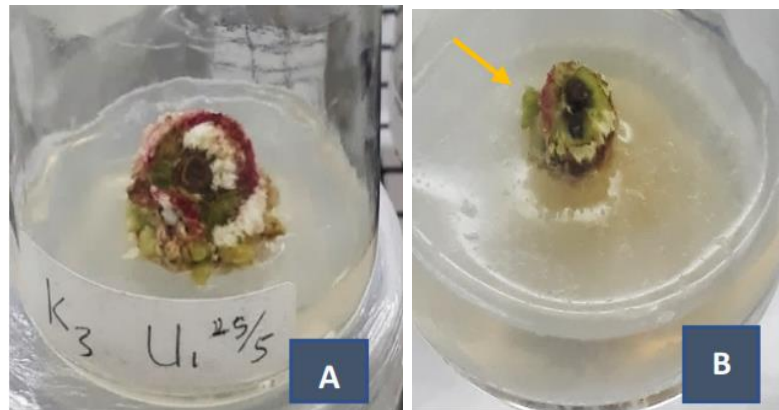
Tabel 3. Menunjukkan hasil pengukuran diameter meristemoid terpanjang adalah pada perlakuan K2 yaitu 2,58 cm diikuti oleh eksplan pada perlakuan K5 yaitu 2,55 cm. Eksplan pada perlakuan lain memiliki panjang meristemoid berkisar antara

0,95 – 2,16 cm. Persentase pembentukan meristemoid tertinggi setelah subkultur didapatkan oleh asal eksplan perlakuan K3 yaitu 100%. Tidak adanya persentase pembentukan meristemoid terjadi pada asal eksplan K2 yaitu 0%. Eksplan yang lainnya menghasilkan meristemoid berkisar antara 33,3% - 66,6%.

3.2 Pembahasan

Purwaningsih, *et.al.* (2004) Meristemoid adalah sekelompok sel-sel meristematis isodiametris (bentuk sel yang cenderung memiliki diameter yang sama) yang terdapat dalam kalus yang berpotensi membentuk tunas dan planlet. Terbentuknya meristemoid adalah bagian dari tahapan organogenesis secara tidak langsung (*indirect organogenesis*). Dwiyani (2015) menyatakan bahwa meristemoid adalah eksplan yang berdiferensiasi menjadi kalus yang menghasilkan sekumpulan sel meristematis yang memiliki sifat totipotensi. Pembentukan meristemoid terjadi karena pengaruh ZPT yang diberikan pada media tanam. Abidin (1994) dalam Fikriati (2009) mengungkapkan bahwa ZPT auksin berperan dalam pembentukan kalus dan pembesaran sel. Yusnita, *et.al.* (2013) menyatakan bahwa ZPT BA berpengaruh membentuk sel-sel meristematis berupa meristemoid pada kalus.

Tunas aksilar yang berhasil terinduksi terjadi melalui fase kalus yang mengandung jaringan meristematis berupa meristemoid (*indirect organogenesis*). Menurut Dwiyani (2015) Proses tersebut telah melalui tahapan berupa dediferensiasi yaitu eksplan yang sel-selnya terdiferensiasi berubah menjadi kalus. Selanjutnya kalus yang telah terbentuk memiliki sifat meristematis sehingga terbentuk meristemoid yang kemudian terlihat adanya kemunculan tunas. Penggunaan ZPT sitokinin pada kegiatan kultur jaringan telah terbukti dapat memacu pertumbuhan tunas dari jaringan kalus, daun, ruas batang ataupun kotiledon. Pembentukan tunas aksilar yang hanya terjadi pada eksplan K4 dapat dipengaruhi oleh beberapa hal seperti kondisi fisiologis jaringan tanaman eksplan, jenis eksplan, umur dan ukuran eksplan (Erawati, *et.al.*, 2017). Morfogenesis Tunas aksilar pada eksplan perlakuan K4 dimulai dari eksplan 7 HST yang terlihat adanya kemunculan meristemoid (bintik-bintik putih), pada 21 HST eksplan terjadi pembengkakan, 42 HST terlihat adanya kemunculan tunas aksilar dengan terdapat primordia daun yang berukuran sangat kecil. Sampai pada umur 90 HST tunas tidak mengalami pertumbuhan yang signifikan (Gambar 1. B).



Gambar 1. A (Meristemoid), B (Tunas Aksilar).
Diameter bagian bawah botol: 4,5 cm

Waktu terbentuknya meristemoid sangat beragam mulai dari 14 HST, 16 HST dan 21 HST. Menurut Sulichantini (2016) cepat lambat nya suatu eksplan membentuk propagul dapat dipengaruhi oleh jenis ZPT yang digunakan, jenis eksplan, kondisi fisiologis eksplan serta kondisi lingkungan. Pada penelitian ini proses pembentukan meristemoid dari awal sangat beragam pada setiap perlakuan. Beberapa eksplan yang mengindikasikan pertumbuhan akan memberikan respon perubahan warna menjadi hijau segar dan terjadi pembengkakan dengan kemunculan bintik-bintik meristemoid berwarna putih serta eksplan menunjukkan kelayuan pada 7 HST yang selanjutnya tumbuh meristemoid pada 21 HST pada area tertentu yang semakin lama mengalami pembesaran hingga merubah bentuk eksplan dari sebelumnya.

Tekstur dan warna meristemoid menjadi salah satu indikator yang dapat menggambarkan bentuk visual meristemoid dan mengetahui kondisi sel-sel yang aktif membelah atau telah mati (Indah, *et.al.*, 2013). Tekstur kalus dapat dibedakan menjadi tiga macam yaitu remah (*friable*), intermediet (semi remah), dan kompak (*non friable*) (Ilham, *et.al.*, 2017). Pada penelitian ini semua meristemoid memiliki tekstur kompak (*non friable*) yang mana sel nya terlihat kompak, sulit untuk dipisahkan dan sangat padat.

Vitasari (2017) bahwa kalus yang memiliki warna putih mengindikasikan adanya jaringan embrionik yang mengandung butiran pati yang tinggi dan belum mengandung klorofil. Kemunculan warna hijau pada meristemoid merupakan pertanda bahwa adanya klorofil pada meristemoid karena pengaruh ZPT auksin dan sitokinin serta cahaya putih pada ruangan inkubasi (Purwaningsih dan Linda, 2004). Warna merah terdapat pada eksplan dengan perlakuan K3, K4, dan K5 yang mulai terlihat setelah 28 HST. Warna merah pada meristemoid dapat terjadi karena bawaan dari eksplan tanaman anggur merah yang mengandung pigmen antosianin. Lizawati (2012) bahwa kemunculan warna coklat pada kalus maupun meristemoid terjadi karena adanya penurunan tingkat fisiologis jaringan akibat kurangnya unsur hara pada media tanam, metabolisme senyawa fenol, serta bertambahnya umur sel sehingga

meristemoid mengalami senesensi yang dapat menghambat pertumbuhan jaringan meristemoid maupun kalus.

Diameter meristemoid menunjukkan bahwa eksplan yang membentuk meristemoid mengalami pembesaran sel. Novitasari, *et.al.*, (2015) bahwa auksin berperan dalam proses pembelahan dan pemanjangan sel tanaman. Gunawan (1995) dalam Fikriati (2009) proses pemanjangan sel melalui dinding sel oleh auksin dapat terjadi karena adanya peningkatan protein pada membrane plasma sel tumbuhan untuk memompa ion H^+ dinding sel. Ion H^+ akan mengaktifkan enzim tertentu sehingga memutuskan beberapa ikatan silang hydrogen rantai molekul selulosa penyusun dinding sel. Sehingga dinding sel mengalami pengenduran yang berdampak mudahnya air masuk ke dalam sel sehingga terjadi pembesaran sel. Pembesaran sel diikuti oleh proses sintesis material dinding sel dan sitoplasma. Yusnita (2013) meristemoid yang terbentuk akan menjadi bakal tunas atau mata tunas. Sehingga semakin panjang diameter meristemoid, berarti akan menghasilkan tunas semakin banyak yang pada akhirnya akan membentuk planlet yang lebih banyak apabila diinduksi pada media perlakuan yang tepat.

4. Kesimpulan

K3 (MS + 2 ppm BA + 5 ppm NAA) merupakan perlakuan yang memberikan respon terbaik terhadap persentase pembentukan meristemoid sebesar 100% pada tahap induksi propagul dan subkultur. K4 (MS + 4 ppm BA + 1 ppm NAA) telah berhasil menginduksi tunas sebesar 33,3% pada eksplan nodus tanaman anggur Prabu Bestari. Berdasarkan hasil penelitian dapat disarankan penggunaan media dengan kombinasi BA dan NAA perlu dilakukan untuk penelitian induksi meristemoid. Penggunaan media dengan kombinasi 4 ppm BA + 1 ppm NAA perlu dilakukan untuk penelitian induksi tunas tanaman anggur. Apabila ingin menginduksi tunas secara *direct organogenesis* maka perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mendapatkan formula media kombinasi BA dan NAA yang lain.

Daftar Pustaka

- Andrini, A., E. Budiyati, S. Widyaningsih. 2008. Buku Buah (Status Perlindungan HKI: Pendaftaran Varietas No.29/PPVHP/2008). Malang. *BPTP Jatim*
- Dwiyani, R. 2015. Kultur Jaringan Tanaman. Denpasar. *Pelawa Sari "Percetakan dan Penerbit"*.
- Erawati, D.N., F. Usken, H. Siti. 2017. Peran Benzyl Amino Purine pada Induksi Tunas Kultur Tembakau White Burley. Jember. *Jurnal Ilmiah INOVASI*.
- Fikrianti, I.U. 2009. Induksi Kalus dari Eksplan Daun Karika Dieng dengan Pemberian Zat Pengatur Tumbuh BA dan NAA. Semarang. Skripsi.
- Indah, P.N., D. Ermavitalini. 2013. Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn) pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi BAP DAN 2,4-D. Surabaya. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*.
- Ilham, A. L., A. Masniawati, Baharuddin, W. Aspianti T. 2017. Induksi Kalus Pisang Barangan Merah *Musa acuminata Colla* dengan Kombinasi Hormon 2,4-D dan BAP Secara *In Vitro*. Makassar. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*.

- Lestari, G. E. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakkan Tanaman Melalui Kultur Jaringan. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetika Pertanian, Bogor. *Jurnal AgroBiogen* 7(1):63-68. *E-publikasi.setjen.pertanian.go.id. Page-359 statistik pertanian 2017.*
- Lizawati. 2012. Induksi Kalus Embriogenik dari Eksplan Tunas Apikal Tanaman jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Dengan Penggunaan 2,4-D dan TDZ. Jambi. Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Jambi.
- Novitasari, Beatrix, Meiriani dan Haryati. 2015. Pertumbuhan Stek Tanaman Buah Naga (*Hylocereus costariensis* (Web.) Britton dan Rose) dengan Pemberian Kombinasi Indole Butyric Acid (IBA) dan Naphthalene Acetid Acid (NAA). *Jurnal Agroteknologi.*
- Prihatman, K. 2000. Budidaya Pertanian: Anggur. Sistem Informasi Pembangunan di Pedesaan, BAPPENAS. Pustaka. Mina. Jakarta.
- Purwaningsih, W., L.Yuniarti. 2004. Anatomi Kalus dari Eksplan Daun *Chataranthus roseous* L.). G. Don (Tapak Dara). Bandung. *Jurnal Pengajaran MIPA*, 5(1). ISSN:1412-0917.
- Rachmandhika, Y. 2017. Regenerasi Tanaman Lidah Mertua (*Sansevieria liberica*) Menggunakan BA (*6-Benzyladenine*) dan NAA (*Naphthalene AcetidAcid*) Secara In Vitro. Skripsi.
- Rini, R.D.P., Suwirnen, N. Nasir. 2018. Pengaruh Naphthalene Asam Asetat (NAA) pada PertumbuhanAkar Pisang Raja Kinalun Secara In Vitro. *Jurnal Biologi Universitas Andalas (J.Bio.UA.).*
- Sulichantini, D. E. 2016. Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh Perhadap Regenerasi Bawang Putih (*Allium sativa* L.) Secara Kultur Jaringan. Kalimantan Timur. *Jurnal Agrifor.*
- Taji, A. M., W.A. Dodd, W. R. Richard. 2006. Teknik Kultur Jaringan Tanaman edisi ke-3. Jambi. Fakultas Pertanian Universitas Jambi.
- Vitasari, R. P. 2017. Induksi Kalus Daun Tanaman Anggur (*Vitis vinifera* L.) dengan Aplikasi 2,4-D Secara *In Vitro*. Jl. PB. Sudirman Denpasar 80231 Bali. *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika.*